

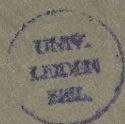
Aus: Universitäts-Hautklinik und Poliklinik
im Klinikum Steglitz, Berlin
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. C. Orfanos

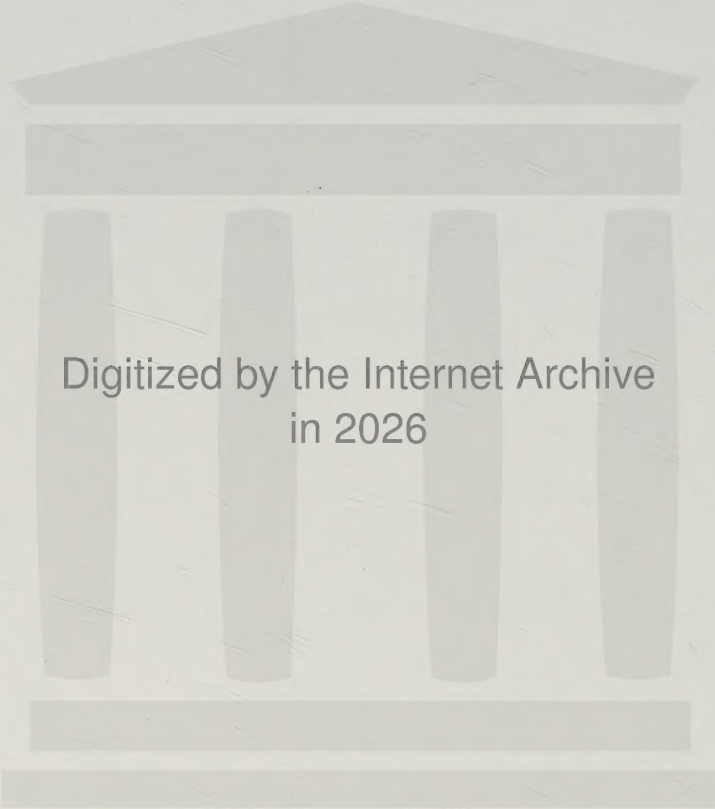
**QUANTITATIVE UND QUALITATIVE
DIFFERENZIERUNG DER INFILTRATZELLEN
IN
ALLERGISCHEN UND TOXISCHEN
EPIKUTANTESTREAKTIONEN**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Clemens Tan
aus Tuban/Indonesien

1983





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546607_0037

Aus: Universitäts-Hautklinik und Poliklinik
 im Klinikum Steglitz, Berlin

Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. C. Orfanos

QUANTITATIVE UND QUALITATIVE DIFFERENZIERUNG
DER INFILTRATZELLEN
IN
ALLERGISCHEN UND TOXISCHEN
EPIKUTANTESTREAKTIONEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Clemens Tan
aus Tuban/Indonesien

Referent: Prof. Dr. Franz Klaschka

Korreferent: Prof. Dr. G. Stüttgen

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 6. 1. 1983

Inhaltsübersicht

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	4
Zielsetzung bzw. Fragestellung der Arbeit	7
II. <u>Eigene Untersuchungen</u>	
Material und Methodik	
a. Testsubstanzen	8
b. Testpatienten	9
c. Lämpchentestung	10
d. Probeexcision/Materialgewinnung	11
e. Histologische Aufarbeitung	12
f. Mikroskopische Analyse	13
a) Vorbereitung	13
b) Quantitative Analyse	14
1) Zelldifferenzierung	14
2) Zellzählung	15
III. <u>Ergebnisse</u>	
A. Makroskopische Testergebnisse	16
B. Ergebnisse der mikroskopischen Analyse	20
1. Quantitative Analyse der Zellinfiltrate .	20
Gesamtübersicht der Histo-Analyse	21
2. Qualitative-quantitative Analyse der	
Zellinfiltrate	26
3. Abgrenzung der allergischen und toxischen	
Testreaktion gegen Benzocain und Laurylsulfat	
aus morphologischer Sicht und ihre graphische	
Darstellung	29
4. Vergleichsanalyse toxischer und toxo-	
allergischer Testreaktionen nach 48 Std.	
gegen Laurylsulfat und Cetylpyrimidium ..	34
5. Vergleichsanalyse <u>toxischer</u> Testreaktionen	
mit Cetylpyrimidium bei Proband MB nach	
24 Std.- und 48 Std.-Reaktionen	37
6. Vergleichsanalyse <u>allergischer</u> Testreaktionen	
mit Cetylpyrimidium bei Proband JW nach	
24 Std.- und 48 Std.-Reaktionen	39
IV. <u>Diskussion</u>	41
V. <u>Zusammenfassung</u>	47
VI. <u>Literatur</u>	50

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN HAUTEXCISATEN AUS ALLERGISCHEN UND TOXISCHEN EPIKUTANTEST-REAKTIONEN

I. Einleitung:

G. MIESCHER (12) unternahm in seinen grundlegenden Arbeiten zur Histopathologie der kontaktallergischen Reaktion den Versuch, eine klare Trennung zwischen allergischem und toxischem Geschehen in funktioneller Sicht, d. h. in bezug auf die reaktionsauslösende Noxe, zu erreichen. Die Abgrenzung toxischer und allergischer Reaktionen allein nach morphologischen Kriterien stößt indessen auf große Schwierigkeiten. LETTERER (9) stellte in seinen Untersuchungen (1960) zur Pathomechanik entzündlicher Reaktionen fest, daß zwischen toxischer und allergischer Reaktion im Hinblick auf das morphische Bild der Reaktion keine grundsätzliche Unterscheidung getroffen werden kann und die allergisch-hyperergische Reaktion an der Zelle das gleiche Schadenbild hervorruft wie irgendein organisches oder anorganisches Toxin.

Von HAUSER (6) wird 1960 in einer cytologischen Untersuchung das vollständige Fehlen von neutrophilen Granulozyten bei rein allergisch-hyperergischen Vorgängen herausgestellt. In allergischen Kontaktekzemen wie auch in allergischen Epikutantest-Reaktionen, die ein experimentell ausgelöstes allergisches Mini-Ekzem darstellen, herrschen lymphomonocytoide Zellformen vor.

BANDMANN(1) fand bei zytoanalytischen Untersuchungen an experimentellen Kontaktekzemen (1960 - 1962) unter den Infiltratzellen einen großen Anteil von Monozyten. In toxischen Epikutantest-Reaktionen lassen sich peroxydasepositive Monozyten nicht in nennenswerter Anzahl nachweisen.

GRIMMER und SPIER (14) konnten tierexperimentell makroskopisch wie histologisch zwischen allergischen, toxischen und toxoallergischen Kontaktreaktionen bei

epikutanen Applikationen verschiedener Konzentrationen von DNCB-Lösungen unterscheiden. Die Meerschweinchen wurden zuvor mit DNCB durch Intraperitoneal-Injektionen mit Donatoren von Milzsuspension sensibilisiert. Die toxische Schwellenkonzentration wurde durch die homologe Sensibilisierung herabgesetzt.

METZ (11) untersuchte die epidermalen Veränderungen allergischer und toxischer Epikutantest-Reaktionen von Menschen elektronenmikroskopisch und fand bei allergischer Reaktion keine zum Zelluntergang führenden Veränderungen, wie diese bei toxischer Reaktion regelmäßig vorlagen.

In bezug auf die Entwicklung des entzündlichen Zellinfiltrates bei der Ekzemreaktion sind folgende Erkenntnisse von Bedeutung:

Die Monozyten und Histiozyten leiten sich von der Retikulumzelle ab. Der Monozyt entspricht als freizirkulierende Blutzelle dem Histiozyten als mobiler Gewebszelle.

Nach KIYONO (16) sind Monozyten eigentlich Histiozyten, die durch Abrundung und Loslösung vom RES entstehen. Bei proliferativen Vorgängen im RES vermehren sich diese Zellformen im Dienste der Abwehrreaktion, und ihre Phagozytosefähigkeit ist wie die der Granulozyten verstärkt ausgeprägt.

Nach MIESCHER (12) und BANDMANN (1) stehen am Startpunkt eines allergischen Kontaktekzems Veränderungen an Gefäßepithelzellen mit vasculären Reaktionen und leichter Oedembildung im Cutisbereich. Im Zuge der Infiltration kommt es nach 24-stündiger Expositionszeit im Bereich der gefäßtragenden corialen Schichten zur Endothelschwellung. Danach setzt eine histiozytäre Zellvermehrung ein. Histiozyten bilden zusammen mit Lymphozyten und Adventitiazellen das zelluläre Infiltrat. Nach 24 - 48 Stunden tritt die epidermale Spongiose mit Verbreiterung der aufgelockerten Stachelzellschicht neben der Zellinfiltration im Corium in den Vordergrund.



Die Lymphozyten als immunkompetente Zellen sind verantwortlich für die Antigen-Erkennung und -Weiterleitung bei der Sensibilisierung und für den Antikörper-Transport bis zum Ort der allergischen Kontaktreaktion. Diese Zellen können je nach Typisierung an der Produktion zellgebundener und freier Antikörper beteiligt sein.

Bei allergischen und toxischen Reaktionen werden eosinophile Granulozyten im peripheren Blut und in Hautinfiltraten oft vermehrt angetroffen. Nach GROSS (16) werden Eosinophile durch einen taktischen Reiz im Knochenmark vermehrt gebildet. REBUCK (16) konnte mit der Hautfenster-Technik die Ansammlung von Eosinophilen als allergische Reizantwort nach Allergenapplikation an der epithelentblösten Hautoberfläche darstellen. Durch "Eosinotaxis", d. h. die Fähigkeit zur Diapedese, wandern Eosinophile bei allergischen Entzündungen in die Haut ein. Stoffwechselprodukte von Askariden bewirken eine Eosinophilen-Vermehrung im Lungengewebe und im Blut. Offenbar spielen die Eosinophilen in der sogenannten lymphozytären Heilphase beim Eiweißabbau eine Rolle. Das Phänomen der Degranulierung der Eosinophilen kann im Vorhandensein von Substanzen gesehen werden, die einen Gewebsschutz ausüben und gegebenenfalls endogene Antihistaminsubstanzen darstellen.

Die neutrophilen Granulozyten sind gekennzeichnet durch rege Phagozytosefähigkeit während der "neutrophilen Kampfphase", durch Aufnahme fremder corpusculärer Elemente in den Zelleib, ferner durch ihre amöboide Beweglichkeit innerhalb des Gewebes im Entzündungsherd und durch Freisetzung einer Anzahl lytischer Fermente.

Bei akuten Infektionen kann eine Verdreifachung der Granulozytenzahl eintreten. Die im Entzündungsgebiet zugrunde gehenden Zellen werden ebenso wie dort vorhandene Allergenreste von Makrophagen aufgenommen und abtransportiert.

Zielsetzung bzw. Fragestellung der Arbeit:

Nach wie vor interessiert die Frage nach den quantitativen und/oder qualitativen Unterschieden der zellulären Infiltration bei Ekzemreaktionen in Abhängigkeit von dem zur Auslösung allergischer und nicht allergischer Reaktionen angewendeten Reizstoffen.

In der folgenden Untersuchung sollen Unterschiede zwischen allergischen und toxischen Hauttest-Reaktionen aufgrund morphologischer und funktioneller Kriterien herausgearbeitet werden, und zwar in bezug auf 3 ausgewählte Testsubstanzen. Die Unterscheidung der zellulären Substrate in allergische und nicht allergische Kontaktreaktionen ist erfahrungsgemäß nur begrenzt möglich. Allerdings wurden vergleichende Untersuchungen von 24- und 48-Stunden-Testreaktionen allergischer, toxoallergischer und toxischer Natur bislang nur mit einer relativ kleinen Anzahl chemischer Verbindungen durchgeführt. Die zelluläre Differenzierung der in 24 Stunden- und 48 Stunden-Reaktionen vorliegenden Infiltrate erfolgte durch lichtmikroskopische Untersuchung des Infiltrataufbaues der allergischen und nicht allergischen Reaktionen. Die Ergebnisse werden rechnerisch ermittelt und graphisch zur Darstellung gebracht. Im einzelnen sollte festgestellt werden, ob und welche Infiltratzellen ein Unterscheidungsmerkmal für allergische und nicht allergische Reaktionen darstellen können.

II. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methodik

a. Testsubstanzen:

Die Auswahl der Kontaktnoxen zur Auslösung allergischer und toxischer Epikutantest-Reaktionen erfolgte aufgrund folgender Überlegungen:

Benzocain, 10 % in Vaseline-Grundlage, besitzt eine starke allergische Wirksamkeit.

Na-Laurylsulfat, 5 % in hydrophiler Grundlage, zeigt erfahrungsgemäß fakultativ-toxische bzw. toxische Wirkung.

Cetylpyrimidiumammoniumchlorid, 1 % in wässriger Lösung, zeigt toxische wie auch allergische Wirksamkeit.

Tabelle 1:

Überblick über die verwendeten Kontaktstoffe, ihre Konzentrationen, Vehikel und Eigenschaften.

<u>Nr.</u>	<u>Testsubstanz</u>	<u>%</u>	<u>Vehikel</u>	<u>Reaktion</u>
1	Benzocain	10	Vaselin	allergisch
2	Na-Lauryl-sulfat	5	hydrophile Suspension	toxisch
3	Cetylpyrimidium	1	H ₂ O	toxisch-allergisch

Anmerkungen zur Struktur und zum Vorkommen der verwendeten Kontaktstoffe

Benzocain oder Anästhesin (p-Aminobenzoesäureäthyl-Ester) findet als Pharmakon breite Anwendung in Pulvern, Dragees, Bonbonpastillen und anderen schmerzstillenden bzw. antiseptischen Präparaten. Als Oberflächenanästhetikum wird Benzocain in Konzentrationen zwischen 5 % und 20 % mit Salben und Hämorrhoidal-Suppositorien angewendet. Jedoch wird Benzocain erst dann wirksam, wenn es mit freiliegenden Nervenendigungen direkt in Berührung kommt. Bei anhaltendem

oder wiederholtem Gebrauch kommt es häufig zur Sensibilisierung und Auslösung allergischer Kontaktreaktionen.

Na-Laurylsulfat, der Ester aus Laurylalkohol und Schwefelsäure, bildet mit Natronlauge Seifen, bekannt als Texapon-K 12. Die sulfatierten Fettalkohole sind ausgezeichnete Netzmittel und gute Emulgatoren für Ö/W-Emulsionen. Als wesentliche Bestandteile der meisten emulgierenden Wachse werden sie nicht nur in Kosmetika gern verwendet, sondern auch als Waschmittel und Seifenzusätze sowie in Shampoos. Viele vegetabilischen Öle enthalten Laurylfettsäure, die in einer Vorstufe bei der Erzeugung von sulfonierten/sulfatierten Seifen vorhanden ist. In Konzentrationen von über 5 % zeigt Na-Laurylsulfat an der Haut toxische Wirkung.

Cetyltrimethylammoniumchlorid (Kurzbezeichnung:

Cetylpyrimidium) ist eine Invertseife, d. h., es liegen hier umgekehrte Verhältnisse wie bei Seifen vor. Invertseifen sind kationaktive Emulgatoren und haben ausgezeichnete Netzmittelseigenschaften. Wegen ihrer bakteriziden Wirkung sind sie gute Desinfektionsmittel. Wesentlicher Bestandteil dieser Invertseifen ist das fünfwertige Stickstoffatom, das in den meisten sogenannten quarternären Ammoniumverbindungen in verschiedenen Substituenten - beispielsweise Pyridin oder Piperdin - enthalten ist. Oberhalb einer bestimmten Grenzkonzentration (1 %) wirkt Cetylpyrimidium in wässriger Lösung toxisch und verursacht Reizerscheinungen an der Haut. In niedrigeren Konzentrationen kann Cetylpyrimidium auch allergische Kontaktreaktionen hervorrufen.

b. Testpatienten:

Für die Auslösung allergischer und toxischer Kontakt-Reaktionen stellten sich insgesamt 31 Patienten zur Verfügung. Bei ihnen war vor 1 - 3 Jahren im Testlabor der Universitäts-Hautklinik im Klinikum Steglitz eine Sensibilisierung gegen Benzocain (Anästhesin), Na-Laurylsulfat oder Cetylpyrimidium festgestellt

worden.

In einem Wiederholungstest wurden die 3 Testsubstanzen bei jedem Patienten mittels Epikutantestung an der seitlichen Rückenhaut angewendet.

Voraussetzung für die Testung war einwandfreies körperliches Befinden und Erscheinungsfreiheit von Seiten der Haut im Testareal.

Darüberhinaus beteiligten sich 4 Patienten, die während des Untersuchungszeitraumes in stationärer Behandlung der Hautklinik waren, an der Testuntersuchung. Bei 3 dieser Patienten lagen Ulcera crurum, bei einem Patienten rezidivierende Unterschenkelektzeme vor. In allen vier Fällen war es nach langwieriger Behandlung zu einer Sensibilisierung gekommen.

c. Läppchentestung

Die Applikation der Teststoffe erfolgte nach der von BANDMANN und DOHN (16) dargestellten Methode mit Testpflasterstreifen der Fa. Beiersdorf, Hamburg.

Die Testsubstanzen wurden im jeweiligen Vehikel mittels Testläppchen auf die seitliche Rückenpartie gebracht und mit Heftpflaster befestigt. Für Benzocain betrug die Testkonzentration 5 mg, für Na-Laurylsulfat 2,5 mg, für Cetylpyrimidium 0,5 mg pro cm² Testfläche.

Bei bekannter Heftpflasterempfindlichkeit wurden zur Vermeidung stärkerer Hautreizungen synthetische Heftpflaster verwendet.

Die Testablesung erfolgte durchweg 24 und 48 Stunden nach Applikation der Teststoffe. Nach Abnahme des Pflasters wurde mindestens 20 Min., d. h. bis zum Abklingen eines eventuell entstandenen Erythems, abgewartet, bevor die eigentliche Beurteilung der Testreaktion nach den Kriterien von BLOCH (16) vorgenommen wurde (s. Tab. 2).

Tabelle 2:

Überblick über 6 verschiedene Reaktions-Stufen mit dazugehörigen Beurteilungen.

<u>Stufe</u>	<u>Reaktionsmerkmal</u>	<u>Beurteilung</u>
I	Erythem	+
II	Erythem, Ödem	++
III	Erythem, Ödem, Papeln	+++
IV	Erythem, Ödem, Papeln, Bläschen	++++
V	Erythem, Abhebung der Epidermis	+++++
VI	Nekrosen	++++++

Makroskopisches Bild:

Als allergische Testreaktionen wurden reaktive Hautveränderungen angesehen, welche die Auflagestelle der Testsubstanz randwärts mehr oder weniger überschritten, während toxische Veränderungen dann angenommen wurden, wenn sie recht exakt auf die Kontaktstelle des auslösenden Stoffes begrenzt blieben. Die makroskopische Differenzierung allergischer und toxischer Reaktionen gelingt bei den Reaktionen gegen die verwendeten Test-Substanzen meist ohne größere Schwierigkeiten. Im Einzelfall bedurfte es wegen besonderer individueller Gegebenheiten allerdings einer kritischen Beurteilung. Von jeder Epikutantest-Reaktion wurde der größte und ggf. kleinste Infiltrat-Durchmesser festgestellt.

d. Probeexcision/Materialgewinnung

Die Entnahme von Hautproben erfolgte unter sterilen Kautelen aus den 24- und 48-Stunden-Reaktionen der Rückenhaut. Nach sorgfältiger Hautreinigung mit 70 %igem Alkohol wurde Hostacain 1 % als Lokalanästhetikum injiziert. Etwa 10 Minuten später erfolgte möglichst schonend die Entnahme der Hautprobe mit Epithel, Epidermis, Corium und subcutanem Fettgewebe mittels Stanze im Durchmesser von 2 - 5 mm aus einem repräsentativen Bereich der Hautreaktion.

Die Gewebsementnahme wurde regelmäßig 24 und 48 Stunden nach Testbeginn durchgeführt, und zwar nach Möglichkeit aus allen 3 Testbezirken ein und derselben Probanden. Die Excisate wurden unfixiert in Plastiktrichterchen bei -20°C bis zur histologischen Bearbeitung aufbewahrt.

e. Histologische Aufarbeitung

Das zylinderische Excisat wurde mit dem Skalpell halbiert. Mittels Kryostat wurden 2,5 μ m dünne Schnitte möglichst aus der Mitte des Excisates angefertigt und auf Objektträger gelegt. Hergestellt wurden von jeder Hautprobe 8 nummerierte Serienschritte. Restliche Gewebeproben wurden im Gefrierfach für weitere Untersuchungen aufbewahrt.

Färbe-Methoden

Zur Färbung der Gewebsschnitte wurden in der Regel die 2 Methoden nach DEANE, BARNETT und SELIGMANN (3) angewendet.

Methode I

Die Farblösung enthält

1. 95 ml gesättigte wässrige Benzidinlösung nach vorheriger Filtration,
2. 5 ml wässrige 1 %ige Nickelammoniumsulfatlösung,
3. 10 Tropfen wässrige 3 %ige H_2O_2 -Lösung.

Zur Färbung wurden die 8 nummerierten Serienschritte pro Excisat auf je 1 Objektträger in einer Petri-Schale mit 5 Tropfen der Farblösung nach Methode I für 30 Minuten überschichtet. Danach wurden sie durch mehrmaliges Eintauchen in Aqua dest. gewaschen und zur Kernfärbung mit Hämalaunlösung nach MAYER 4 - 5 Min. überschichtet. Abspülen in Leitungswasser und Eindecken der Objektträger mit flüssiger heißer Glyzeringelatine. Reinigen der Präparate mit feuchtem Tuch.

Methode II

Die erforderlichen 2 Lösungen wurden wegen kurzfristiger Haltbarkeit stets neu angesetzt.

Lösung 1 enthält 100 ml 40 %igen unvergällten Äthanol,
1 %ige 1-Naphtol-Lösung und
2 ml 3 %ige H_2O_2 -Lösung.

Lösung 2 besteht aus:

96 ml 40 %igem unvergälltem Äthanol,
0,1 %iger Pyronin-Lösung und
4 ml Anilin-Öl.

Die 8 nummerierten Serienschnitte wurden in Petri-Schalen mit Lösung 1, nach Methode II bis 20 Min. überschichtet, danach in Aqua dest. gewaschen. Anschließend erfolgte Überschichtung für 1 - 3 Stunden mit Lösung 2 und wiederum Waschung. Zur Kernfärbung wurden sie für 5 Min. mit Hämalaun-Lösung überschichtet. Nach gründlicher Waschung in Aqua dest. mehrmals in aufsteigenden Alkohol (60 % - 100 %) getaucht. Schließlich über Xylol mit Eukitt auf Objektträgern montiert. Die Reinigung erfolgte im Trockenzustand mit Xylol-Lösung.

Farbgebung

Bei der Färbung der Präparate ergaben sich bei beiden Methoden spezifische und unspezifische Farbgebungen, bedingt durch Oxydationsprozesse. Um eine gleichbleibende Farbgebung zu erzielen, wurde die Färbung von einer bestimmten Person durchgeführt. Auf diese Weise konnten mikroskopische Analyse-Fehler bei der Zelldifferenzierung vermieden werden.

f. Mikroskopische Analyse

Vorbereitung:

Zunächst wurde die Größe der Schnitte von jedem angefertigten

Präparat bestimmt. Die Messung der Ausschnitte erfolgte mittels Okular-Mikrometer nach Länge und Breite. Verwendet wurde ein Licht-Mikroskop der Firma Zeiss mit verstellbarem Okular und Netzplatte. Ein "Leukodiff"-Zählgerät stand für die Analyse zur Verfügung.

Quantitative Analyse

1) Zelldifferenzierung:

Die Infiltratzellen können in einer Wanderungsphase andere morphologische Charakteristika als in der Ruhephase aufweisen. Zellen, die quer getroffen sind, haben ebenfalls eine veränderte Gestalt. Allerdings liegen derartige unbestimmbare Zellformen im allgemeinen relativ selten vor. Sie können im Zweifelsfall unberücksichtigt bleiben. Unklare Begriffe wie lymphomonohystiozytäre Elemente wurden hier nicht verwendet.

Folgende Zellarten konnten unterschieden werden:

Monozyten sind in erster Linie an ihrer Größe zu erkennen, zumal die Beurteilung ihrer Farbgebung bei den peroxydasepositiven und -negativen Zellen ungewiß ausfällt. Diese Zellen, im Histo-Bild vergleichsweise größer als andere Zellen, haben einen gebuchteten oder gelappten Zellkern mit einem Durchmesser von 12 - 20 μm .

Lymphozyten lassen sich an dem kleineren runden oder ovoiden Zellkern mit (Durchmesser von 8 μm) einem einheitlichen Farbton (peroxydasenegativ) erkennen. Sie liegen überwiegend in Zellhaufen angeordnet.

Die neutrophilen segmentkernigen Granulozyten weisen 2 - 4 scharf abgesetzte, nur durch eine schmale Brücke verbundene Kernsegmente auf und haben einen Durchmesser von 10 - 14 μm . Das Cytoplasma zeigt eine feine Granulation mit positiver Peroxydase-Reaktion.

Eosinophile sind durch kräftige acidophile Granulation ihres Cytoplasma ausgezeichnet. Die Granula mit hellroter Eigenfarbe im Präparat füllen den Zelleib so dicht aus, daß vom eigentlichen Cytoplasma meist wenig zu erkennen ist.

Die mikroskopische Unterscheidung von Fibrozyten, Histiozyten und Monozyten ist nach BANDMANN (1) im histologischen Präparat oft sehr schwer und setzt Übung sowie empirisches Wissen voraus.

2) Zellzählung:

Die Differenzierung und Zählung der Zellen erfolgte bei mikroskopischer Betrachtung in 400facher Vergrößerung. Das benutzte Mikroskop besaß ein verstellbares Okular (Vergrößerung 10), das mit einer Netzplatte ausgerüstet war. Diese Netzeinteilung wurde auf das Blickfeld projiziert, unabhängig von der jeweils eingestellten Vergrößerung.

Die Durchmusterung der Zellinfiltration eines jeden Schnittpräparates erfolgte von oben nach unten und von links nach rechts.

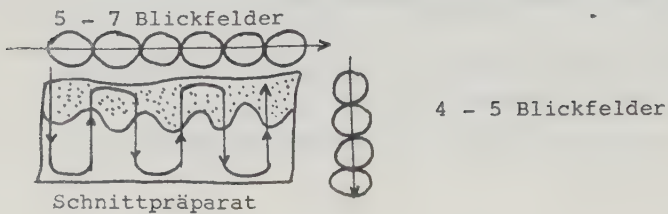
Berücksichtigt wurden nur scharf dargestellte und differenzierbare Zellen. Zellen, die im Hintergrund standen, blieben unberücksichtigt. Dies war vornehmlich bei einzelnen zu dicken Schnitten der Fall. Zellen, die quer getroffen waren, blieben ebenfalls unberücksichtigt.

Von jedem Schnittpräparat wurden durchschnittlich 20 - 35 Blickfelder ausgezählt, und zwar in einer Ausdehnung von 4 - 5 Blickfeldern von oben nach unten bzw. von der Epidermis zum Corium und 5 - 7 Blickfeldern von links nach rechts (s. Abb. 1).

Abb. 1

Schematische Darstellung der zur mikroskopischen Zellanalyse eines Schnittpräparates ausgewählten und ausgezählten Blick-

felder.



III. Ergebnisse

A. Makroskopische Testergebnisse

Die bei 31 Testpatienten gefundenen Epikutantest-Reaktionen werden zunächst geordnet nach einzelnen Allergenen, sodann in einem Gesamtüberblick dargestellt.

1. Benzocain:

Von 11 Probanden, die gegen Benzocain sensibilisiert waren, zeigten bei der 24 Stunden-Kontrolle 3 Probanden keine Reaktion. 6 Probanden reagierten mit Erythem und 2 Probanden mit Erythem-Ödem. Nach 48 Stunden wiesen 6 Probanden ein Erythem, 3 Probanden ein Erythem-Ödem und 2 Probanden eine Erythem-Ödem-Papel-Bläschen-Reaktion auf (s. Tab. 3).

Tabelle 3:

Epikutantestergebnisse nach 24 und 48 Stunden bei 11 Benzocain-Allergikern.

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	48 Std.
1	EH	w	66 J.	-	+
2	AN	w	69 J.	+	+
3	EL	m	68 J.	++	++++ st
4	UW	w	52 J.	-	+
5	CM	w	41 J.	+	++ st
6	WS	w	30 J.	+	+
7	JT	m	76 J.	+	+
8	MA	w	35 J.	+	++

9	HP	m	42 J.	++ st	++++ st
10	NK	m	24 J.	+ st	++ st
11	HK	m	31 J.	-	+

st = Stanze

Bei 2 Probanden wurde aus der 24 Std.- und 48 Std.-Reaktion je eine Hautprobe entnommen. Bei 1 Probanden (HP, m, 42 J., Tab. 3) wies die 24 Std.-Reaktion ein Erythem-Ödem, die 48 Std.-Reaktion eine Erythem-Ödem-Papel-Bläschenbildung auf. Bei dem anderen Probanden (NK, m, 24 J., Tab. 3) fand sich in der 24 Std.-Reaktion ein Erythem und in der 48 Std.-Reaktion ein Erythem-Ödem. Aus der 48 Std.-Reaktion wurden bei 2 weiteren Probanden eine Hautprobe entnommen (EL, m, 68 J. und CM, w, 41 J., Tab. 3).

2. Laurylsulfat:

Die 4 mit Laurylsulfat getesteten Probanden zeigten in der 24 Std.-Reaktion durchweg ein Erythem. Nach 48 Std. fand sich bei 2 von 4 Fällen ein unveränderter Reaktionsbefund mit Erythem. In 2 Fällen verstärkte sich die Reaktion. Es kam bei einem Probanden zu einer Erythem-Ödem-, bei dem 4. Probanden zu einer Erythem-Ödem-Papel-Reaktion (s. Tab. 4).

Bei einem Probanden (NK, m, 24 J., Tab. 4) wurde je eine Stanze aus der 24- und 48 Std.-Reaktion entnommen, ferner je 1 Stanze aus der 24 Std.-Reaktion bei Proband CD und aus der 48 Std.-Reaktion des Probanden LK (s. Tab. 4).

Tabelle 4:

Epikutantestergebnisse gegen Laurylsulfat nach 24 Std. und 48 Std. bei 4 Probanden.

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	48 Std.
1	LK	w	44 J.	+	+ st
2	MA	w	35 J.	+	++
3	NK	m	24 J.	+ st	+++ st
4	CD	w	23 J.	+ st	+

3. Cetylpyrimidium:

Von 24 mit Cetylpyrimidium getesteten Probanden zeigten 6 in der 24 Std.-Reaktion, soweit die makroskopische Beurteilung eine Differenzierung zuließ, ein Erythem und Ödem, 18 Probanden zeigten ein Erythem. Die Testreaktion gegen Cetylpyrimidium konnte bei 8 Probanden eher einem toxischen und bei 16 Probanden einem toxo-allergischen Reaktionsbild zugeordnet werden (s. Tab. 5).

Die 48 Std.-Reaktion zeigte zusammenfassend folgende Befunde:

- 4 Probanden mit Erythem, Ödem, Papeln, Bläschen
- 4 Probanden mit Erythem, Ödem, Papeln
- 6 Probanden mit Erythem, Ödem
- 7 Probanden mit Erythem
- 3 Probanden ohne Befund

Tabelle 5:

Epikutantestreaktionen nach 24 Std. und 48 Std. bei 24 mit Cetylpyrimidium getesteten Probanden.

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	48 Std.
1	EL	m	68 J.	++	+++
2	WS	w	30 J.	tox +	+
3	JS	m	23 J.	+	++++ st
4	CR	w	41 J.	+	+ st
5	HL	m	61 J.	+	++++ st
6	AK	w	16 J.	tox +	+ st
7	HB	m	21 J.	+	++ st
8	LK	w	44 J.	+	++ st
9	HH	w	70 J.	+	+++ st
10	GB	m	70 J.	+	++
11	JT	m	76 J.	++	+++
12	MA	w	35 J.	tox +	+

13	GR	w	40 J.	+	+	st
14	EB	w	64 J.	+	++++	st
15	VK	m	28 J.	tox +	-	
16	HG	w	32 J.	tox +	+	st
17	EK	w	68 J.	tox +	st +	
18	CD	w	23 J.	++	st ++	
19	MB	w	20 J.	tox +	st ++	st
20	UH	w	46 J.	+	st ++	
21	JW	w	26 J.	++	st ++++	st
22	IB	w	36 J.	tox ++	st -	
23	HK	m	61 J.	++	st +++	st
24	HK	m	31 J.	tox +	-	

tox = toxische Testreaktion nach makroskopischer Beurteilung

st = Stanze durchgeführt

Von 17 der 24 Probanden wurden Hautproben mittels Stanze entnommen, und zwar bei 4 Probanden aus der 24 Std.-Reaktion, bei 10 Probanden aus der 48 Std.-Reaktion und bei 3 Probanden sowohl aus der 24 Std.- als auch aus der 48 Std.-Reaktion (s. Tab. 5).

Kombination

Bei dem Probanden NK, m, 24 J., (Tab. 3 und 4) fanden sich nach 24 Std. und 48 Std. positive Testreaktionen gegen Benzocain und gegen Laurylsulfat. In diesem besonderen Fall konnten Hautproben aus Reaktionen gegen beide Testsubstanzen nach 24 und 48 Std. entnommen werden.

Bei den Probanden CD, w, 23 J. und LK, w, 44 J. (Tab. 5) waren die Tests mit Laurylsulfat und Cetylpyrimidium in beiden Reaktionsphasen positiv. Vom Probanden CD (Tab. 4, Nr. 4 und Tab. 5, Nr. 8) wurde eine Hautprobe aus der 24 Std.-Reaktion beider Testsubstanzen entnommen, vom Probanden LK (Tab. 4, Nr. 1, Tab. 5, Nr. 8) aus der 48 Std.-Reaktion gegen Cetylpyrimidium.

Bei den Probanden EL (Tab. 3, Nr. 3) und WS (Tab. 5, Nr. 2) ergaben die Testungen mit Benzocain und Cetylpyrimidium positive Reaktionen nach 24 und 48 Stunden. Es wurde bei Proband EL eine Hautprobe aus der 48 Std.-Reaktion gegen Benzocain entnommen.

Ein Proband (MA, w, 35 J.) wies Reaktionen gegen alle 3 Testsubstanzen auf, verweigerte jedoch die Entnahme einer Hautprobe.

Die von Testpersonen mit positiven Reaktionen gegen zwei oder drei Testsubstanzen gewonnenen Hautexcisionen sind für die Aussage einer quantitativen Vergleichsanalyse besonders aufschlußreich.

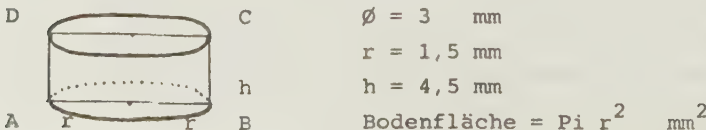
B. Ergebnisse der mikroskopischen Analyse

1. Quantitative Analyse der Zellinfiltrate

Bei der mikroskopischen Zyto-Analyse von je 8 Serienschnitten wurde für jedes Excisat die Anzahl der Infiltratzellen gezählt. Ausgehend von der Zellzahl pro 1 mm^2 eines $2,5 \mu$ dicken Schnittes wurde, bei Annahme einer gleichmäßigen Zellverteilung pro 1 mm^2 Schnittfläche und bei Berücksichtigung der im Epikutantest meist kreisförmigen Reaktion mit Durchmesser von $1 - 2 \text{ cm}$, die Zellzahl eines jeden Reaktionsherdes (Infiltrat) unter Zugrundelegung der Zellzahlen im ausgestanzten Gewebszylinder errechnet.

Abb. 2

Berechnungsgrundlage der Zelldichte in dem durch Stanze gewonnenen zylindrischen Hautexcisat.

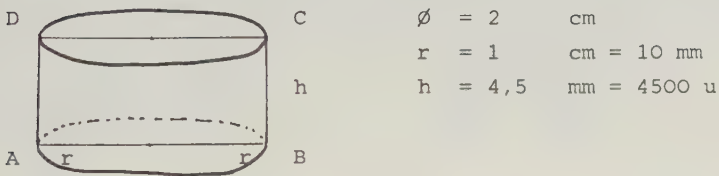


Fläche ABCD ($2r \times h$) enthält im Durchschnitt die gleiche Zahl von Zellen wie ein anderer Ausschnitt des Gewebszylinders. Wenn jeder mm^2 Excisat bzw. Histo-Präparat pro 2,5 u Dicke X Zellen enthält, enthält das Excisat:

$$\frac{h}{2,5 \text{ u}} \times \pi r^2 \times X \text{ Zellen.}$$

Abb. 3

Berechnungsgrundlage für das Hautinfiltrat einer positiven Hautreaktion nach Epikutantest mit kreisförmigen Testläppchen.



Wenn die Infiltratbodenfläche = $\pi r^2 \text{ mm}^2$ ist, enthält das Infiltrat $\frac{h}{2,5 \text{ u}} \times \pi r^2 \times \text{Zellzahl}$ in 1 mm^2 von Zellen.

Die Ergebnisse der quantitativen Zellanalyse in Excisaten aus Reaktionen gegen Benzocain, Laurylsulfat und Cetylpyrimidiumchlorid sind in Tab. 6 dargestellt.

Tabelle 6:

Gesamtübersicht über die Histo-Analyse-Ergebnisse aus 28 Hautproben von 19 Probanden.

Benzocain: Typ der allergischen Testreaktion

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	1 mm ²	Infiltr.	48 Std.	1 mm ²	Infiltr.
1.	EL	m.	60 J.						
2.	CM	w.	41 J.						
3.	HP	m.	42 J.						
4.	NK	m.	24 J.						

Laurylsulfat: Typ der toxischen Testreaktion

1.	LK	w.	44 J.						
2.	NK	m.	24 J.						
3.	CD	w.	23 J.						

Cetylpyrimidium; Typ einer toxoallergischen Testreaktion

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	1 mm ²	Infiltr.	48 Std.	1 mm ²	Infiltr.
1.	IS	m.	23 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	3, 68 21, 78 4, 57 0, 64	4161932 24632308 5174142 727207
2.	CR	w.	41 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	0, 78 21, 18 2, 8	392071 10555776 1407436
3.	HL	m.	61 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	4, 65 25, 82 8, 64 1, 80	6573705 36501734 12214368 2551728
4.	AK	w.	16 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	0, 28 28, 86 7, 35	141246 14508662 3696029
5.	HB	m.	21 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	0, 82 28, 54 5, 03	602880 21100800 3768000
6.	LK	w.	44 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	38, 56 90, 25 25, 14	19382415 45364704 7614233
7.	HH	w.	70 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	2, 78 22, 78 79, 25	1398012 11454273 39838503
8.	GR	w.	40 J.				Mono Lympho Gran. Eos.	3, 30 105, 17 11, 6 0, 96	1658764 52866844 5830809 486571

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	1 mm ²	Infiltr.	48 Std.	1 mm ²	Infiltr.
9.	EB	w.	64 J.						
							Mono	2, 70	3825472
							Lympho	55, 66	82938951
							Gran.	14, 85	21001927
							Eos.		
10.	HG	w.	32 J.				Mono	0, 93	584337
							Lympho	26, 54	16675612
							Gran.	10, 65	6691608
							Eos.		
11.	EK	w.	68 J.			353115			
					0, 56	7637857			
					12, 15	4817957			
					7, 66	1534985			
					2, 44				
12.	CD	w.	23 J.			1542148			
					3, 06	17702539			
					35, 21	6286215			
					12, 50	628330			
					1, 25				
13.	MB	w.	20 J.			5851104			
					10, 34	20448046			
					36, 16	780938			
					1, 38				
							Mono	10, 44	5906522
							Lympho	42, 77	24185921
							Gran.	2, 55	1441994
							Eos.		
14.	UH	w.	46 J.			241274			
					0, 48	21086419			
					41, 95	170903			
					0, 34				
15.	JW	w.	26 J.			471240			
					0, 75	18948874			
					30, 15	7026502			
					11, 18				
							Mono	2, 35	3321960
							Lympho	21, 66	30618576
							Gran.	13, 44	18998784
							Eos.		
16.	IB	w.	36 J.			572022			
					1, 13	5326645			
					10, 59	3560312			
					7, 08	6936			
					0, 01				

Nr.	Prob.	Geschl.	Alt.	24 Std.	1 mm ²	Infiltr.	48 Std.	1 mm ²	Infiltr.
17	HK	m.	61 J.	Mono Lympho Gran. Eos.	24,75 148,76 11,14 2,82	12440736 74777619 5603609 1421511	Mono Lympho Gran. Eos.	9,37 80,35 8,87 21,57	10602000 90866208 10036560 24402128

2. Qualitative-quantitative Analyse der Zellinfiltrate

Benzocain

In der Initialphase der allergischen Spät-Typ-Reaktion, die klinisch nach mehr als 12 Std. manifest wird, strömen Lymphozyten in den Reaktionsherd ein. Die Lymphozyten stehen von Anfang an im Vordergrund der mit Vasodilatation, leichter Ödembildung im Cutis- und Epidermisbereich startenden Reaktion. Danach setzt eine histiozytäre Zellproliferation ein. Die Monozyten wandern aus den Gefäßen aus und vermischen sich mit Lymphozyten im gefäßnahen Infiltrat sowie im Bereich von Follikeln und Schweißdrüsen.

In der 24 Std.-Reaktion finden sich im mittleren Corium lockere bis dichte Infiltrate vornehmlich von Lymphozyten. Perivaskulär liegen disseminiert zahlreiche benzidinpositive Zellen, die den Monozyten entsprechen. In den spongiotisch intraepidermalen Bläschen finden sich Lymphozyten verstreut zwischen den gelockerten Stachelzellen. Das Stratum basale erscheint verquollen und an einigen Stellen spongiotisch.

Wenn die allergische Testreaktion nach 48 Std. ihren Höhepunkt erreicht hat, findet man Infiltratzellen in der epithelialen Epidermis, die Bläschenbildung aufweist. Zahlreiche Lymphozyten und Monozyten bleiben im perivaskulären subepidermalen Raum liegen. Im mittleren Corium können zu diesem Zeitpunkt einzelne Eosinophile und dichtere Infiltrate aus Monozyten gefunden werden. Die Bläschen enthalten ein Material, das sich färberisch wie Fibrin verhält. Bei den epithelialen Epidermisveränderungen findet man zuweilen einzelne segmentkernige Granulozyten. Die Epithelschicht ist stellenweise von Fibrin bedeckt. An einigen Präparaten ist das Auswandern der Monozyten aus den Gefäßen deutlich zu beobachten. Diese Zellen nehmen während ihrer Durchwanderung eine andere Gestalt als in Ruhe an. Überall dort, wo Spongiose oder intraepidermale Bläschen anzutreffen sind, kommt es zu degenerativen Zellveränderungen, nicht zum Zelltod. In dieser Phase ist eine deutliche

Zunahme von Infiltratzellen, u.a. Monozyten, anzutreffen.

Die ursprünglich dichten, sich auf das mittlere Corium beschränkenden zelligen Infiltrate sind später verstreut angeordnet. Die Infiltratzellen sind ins obere Corium vorgedrungen, Monozyten in die Epidermis invadiert.

Natrium-Laurylsulfat

In toxischen Testreaktionen beobachtet man im Bereich der Cutis initial regelhaft Gefäßerweiterung, Exsudation, Ödem und Auswanderung von benzidinpositiven neutrophilen Granulozyten. Diese beherrschen in der Regel das Bild der Initialphase. Eine Anhäufung von Lymphozyten ist hier außerordentlich wechselhaft zu sehen.

Nach 24 Std. sind die Granulozyten in der Cutis reduziert, in der geschädigten Epidermis hingegen reichlich vorhanden. Lymphozyten können in beträchtlicher Anzahl im Infiltrat vorliegen. Es bestehen hier und da suprabasale Spongiosen und Bläschenbildungen. Das Epidermis-Epithel ist stellenweise ödematös gequollen. Zwischen den aufgelockerten Stachelzellen liegen einzelne eingewanderte Monozyten.

Nach 48 Std. zeigen einige Testreaktionen das gleiche Bild wie nach 24 Stunden. Infiltration und Zelldichte haben sich kaum oder nur geringfügig vermehrt. Eine tiefergreifende Gewebeschädigung hat nicht weiter stattgefunden. Einige Testreaktionen zeigen indessen eine Ausbreitung der Infiltration mit Vermehrung der Lymphozyten und Granulozyten, ferner vermehrte Ausbildung suprabasaler Bläschen.

Bei der toxischen Epikutantest-Reaktion kann es zur Oberflächenschädigung der Epidermiszellen mit Ödematisation und Schädigung im Zellinnern kommen, zuweilen mit vollständiger Cytolyse einzelner Zellen. Durch Zellnekrosen entstehen subcorneal gelegene Hohlräume, die der lichtmikroskopischen

Untersuchung als "Vesiculette Primordiale" entsprechen können.

Cetylpyrimidium:

Bei der toxo-allergischen Testreaktion, ausgelöst mit 1 %iger Cetylpyrimidiumlösung, entspricht das Reaktionsbild im wesentlichen der allergischen Ekzem-Reaktion. Im histologischen Bild treten Lymphozyten von vornherein in den Vordergrund. In der Regel besteht eine "lymphozytäre Spongiose", häufig auch suprabasale spongiotische Bläschenbildung.

Während die lymphozytäre Spongiose einem ekzemallergischen Reaktionsmechanismus entspricht, ist die subepidermale Bläschenbildung morphologisch der bei Crotonöl-Reaktion beschriebenen toxischen Reaktion ähnlich.

Die Kombination von ekzemallergischen und toxischen Veränderungen in einer Kontaktreaktion ist nichts Ungewöhnliches und ist bei Anwendung eines primär toxischen Allergens im Bereich der toxischen Schwellenkonzentration anzutreffen.

Bei der toxo-allergischen 24 Std.-Reaktion findet sich im Corium eine Infiltration mit Lymphozyten und zahlreichen Monozyten. In epidermalen spongiotischen Bläschen liegen stellenweise auch einige segmentkernige Granulozyten. Im Bereich der Schweißdrüsenausführungsgänge, Haarfollikeln und Talgdrüsen sieht man mäßig ausgedehnte lymphozytäre Infiltrate. Zu erkennen ist ein erhebliches Ödem des Papillarkörpers.

In der 48 Std.-Reaktion sieht man eine verstärkte Infiltration aus Lymphozyten, Monozyten und neutrophilen Granulozyten. Die Reaktion breitet sich weiter aus und läßt Einwanderung von Zellen in die spongiotischen Bläschenräume noch deutlicher erkennen. Eosinophile können fehlen, gelegentlich aber auch im Infiltrat vorhanden sein. Die Infiltratzellen sind in dieser Phase verstreut und vom mittleren Corium in die oberen Coriumschichten eingewandert.

3. Abgrenzung der allergischen und toxischen Reaktion gegen Benzocain und Laurylsulfat aus morphologischer Sicht

Die im histologischen Bild sichtbare gewebliche Antwort auf die Testsubstanzen setzt sich wie bei allen entzündlichen Reaktionen, ob sie obligat-toxischer Natur durch Laurylsulfat, ob sie allergischer Natur durch Benzocain sind, aus denselben Grundelementen zusammen: Gefäßerweiterung, Ödem, zellige Infiltration aus Leukozyten und Lymphozyten in der Initialphase und Äußerungen der reticuloendothelialen Aktivität in der anschließenden reparatorischen Phase. Wenn schon qualitative Unterschiede nicht bestehen, so läßt die Unterschiedlichkeit der Ausgangssituation solche quantitativer Art, vor allem bei Berücksichtigung des zeitlichen Ablaufs erkennen. In dieser Beziehung ergeben sich in der 24 Std.- und 48 Std.-Reaktion quantitative Unterschiede zwischen den mit Benzocain und Laurylsulfat hervorgerufenen Testinfiltraten.

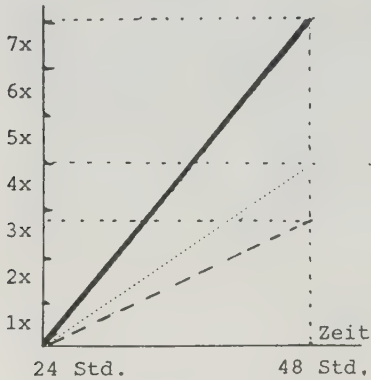
Als Musterpräparat nehmen wir die mikroskopischen Ergebnisse des Probanden NK (m, 24 J., Tab. 6), bei dem die Testung mit Benzocain und Laurylsulfat positiv ausfiel. Makroskopisch zeigten sich bei beiden Testsubstanzen nach 24 Std. Erytheme und nach 48 Std. bei Benzocain Erythem-Ödeme, bei Laurylsulfat daneben auch Knötchenbildung.

Abb. 4:

Gegenüberstellung der Infiltratzellen in allergischer und toxischer Testreaktion, ausgelöst durch Benzocain und Laurylsulfat, nach 24 Std.- und 48 Std.-Reaktion bei Proband NK (m, 24 J., Tab. 7)

Benzocain

Vermehrungsquote



———— Monozyten
 Granulozyten
 - - - - - Lymphozyten

Laurylsulfat

Vermehrungsquote

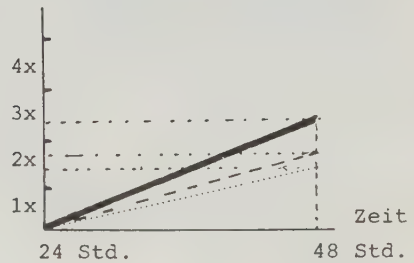


Tabelle 7:

Gegenüberstellung der makroskopischen und mikroskopischen Ergebnisse der 24 Std.- und 48 Std.-Reaktionen gegen Benzocain und Laurylsulfat bei einem 24jährigen Probanden (NK).

Benzocain

allergische Reaktion

24. Std.

makroskopisch: +

Ø Wert: Mono: 11
 Lympho: 697,37
 Gran: 6,25

1 mm^2 : Mono: 0,73
 Lympho: 46,49
 Gran: 0,41

Laurylsulfat

toxische Reaktion

makroskopisch: +

Ø Wert: Mono: 16,75
 Lympho: 606,12
 Gran: 14,37

1 mm^2 : Mono: 1,24
 Lympho: 44,89
 Gran: 1,06

Infilt: Mono: 458673
Lympho: 29210596
Gran: 261381

Infilt: Mono: 701205
Lympho: 25389280
Gran: 601679

48. Std.

makroskopisch: ++

makroskopisch: +++

Ø Wert: Mono: 103
Lympho: 2490,62
Gran: 33,12

Ø Wert: Mono: 32,25
Lympho: 831,5
Gran: 16,12

1 mm²: Mono: 5,15
Lympho: 124,53
Gran: 1,65

1 mm²: Mono: 1,79
Lympho: 46,19
Gran: 0,89

Infilt: Mono: 3235848
Lympho: 78244689
Gran: 1036728

Infilt: Mono: 1581357
Lympho: 40809627
Gran: 790678

In der bei Proband NK durch Benzocain hervorgerufenen allergischen Reaktion haben sich die Monozyten nach den oben angegebenen Dichtezahlen (1 mm²) in der 48 Std.-Reaktion im Vergleich zur 24 Std. Reaktion $\frac{5,15}{0,73}$ um das ca. 7fache vermehrt, die Lymphozyten $\frac{124,53}{46,49}$ um das 2,7fache und die Granulozyten $\frac{1,65}{0,41}$ um das 4fache.

Im Infiltrat bei der 48 Std.-Reaktion sind die Monozyten im Vergleich zur 24 Std.-Phase von 45×10^4 auf 323×10^4 Zellen, d. h. auf das 7fache angestiegen. Die Lymphozyten stiegen von 29×10^6 auf 78×10^6 Zellen, mithin auf das ca. 3fache an. Die Granulozyten vermehrten sich von 26×10^4 auf 103×10^4 Zellen, d. h. auf das ca. 4fache (s. Abb. 4).

Bei der durch Laurylsulfat hervorgerufenen toxischen Testreaktion des Probanden NK haben sich die Monozyten nach den oben angegebenen Dichtezahlen nach 48 Std.-Reaktionsphase im Vergleich zur 24 Std.-Phase $\frac{1,79}{1,24}$ nur leicht auf das ca. 1,3fache vermehrt, die Lymphozyten $\frac{46,19}{44,89}$ auf das ca. 1,03fache leicht vermehrt, die Granulozyten $\frac{0,89}{1,06}$ auf das ca. 0,8fache leicht vermindert.

Beim Vergleich der 24 Std.- und 48 Std.-Reaktionsphase der toxischen Reaktion des Probanden NK verdoppelten sich die Monozyten im Infiltrat von 70×10^4 auf 158×10^4 Zellen. Die Lymphozyten stiegen im Infiltrat von 25×10^6 auf 40×10^6 Zellen um das ca. 1,5fache, ebenso Granulozyten von 60×10^4 auf 79×10^4 , d. h. auf das ca. 1,5fache an (s. Abb. 4).

Beim Vergleich der allergischen Testreaktion gegen Benzocain und der toxischen Reaktion gegen Laurylsulfat nach 24 Std. liegt bei Proband NK die Dichtezahl der Monozyten in der allergischen Reaktion um 0,58 unter der Dichtezahl der toxischen Reaktion. Die Dichtezahl der Lymphozyten bei der allergischen Reaktion ist um 1,04 höher als bei der toxischen Reaktion. Die Dichtezahl der Granulozyten ist bei der allergischen Reaktion um 0,4 geringer als die Dichtezahl bei der toxischen Reaktion. In der 48 Std.-Reaktion weisen die Monozyten bei der allergischen Reaktion eine etwa 3 x größere Dichtezahl auf als bei der toxischen Reaktion. Die Lymphozyten sind etwa 2,7 mal und die Granulozyten etwa 2 mal häufiger anzutreffen. Beim Vergleich zwischen allergischer und toxischer Reaktion im Infiltrat der 24 Std.-Reaktion bei Proband NK zeigen die Zellen folgende Verhältnisse, angegeben als reziproker Wert:

Mono	(allergisch)	$\frac{45 \times 10^4}{70 \times 10^4}$	$\frac{\text{Zellen}}{\text{Zellen}} =$	ca. 1,5fache
Mono	(toxisch)			Zunahme
Lympho	(allergisch)	$\frac{29 \times 10^6}{25 \times 10^6}$	$\frac{\text{Zellen}}{\text{Zellen}} =$	ca. 0,8fache
Lympho	(toxisch)			Abnahme
Gran.	(allergisch)	$\frac{26 \times 10^4}{60 \times 10^4}$	$\frac{\text{Zellen}}{\text{Zellen}} =$	ca. 2,2fache
Gran.	(toxisch)			Zunahme

Beim Vergleich zwischen allergischer und toxischer Reaktion im Infiltrat der 48 Std.-Reaktion bei Proband NK zeigen die Zellen folgende Verhältnisse, angegeben als reziproker Wert:

Mono	(allergisch)	$\frac{323 \times 10^4}{158 \times 10^4}$	$\frac{\text{Zellen}}{\text{Zellen}}$	= ca. 0,48fache
Mono	(toxisch)			Abnahme
Lympho	(allergisch)	$\frac{78 \times 10^6}{40 \times 10^6}$	$\frac{\text{Zellen}}{\text{Zellen}}$	= ca. 0,5fache
Lympho	(toxisch)			Abnahme
Gran.	(allergisch)	$\frac{103 \times 10^4}{79 \times 10^4}$	$\frac{\text{Zellen}}{\text{Zellen}}$	= ca. 0,7fache
	(toxisch)			Abnahme

Die Ergebnisse der Untersuchungen bei dem Probanden HP (m, 42 J., Tab. 6) weisen darauf hin, daß bei der Benzocaintest-Reaktion die Lymphozyten von Anfang an in den Vordergrund getreten sind. Demgegenüber beherrschen in der Laurylsulfat-test-Reaktion bei dem Probanden CD (w, 23 J., Tab. 6) neutrophile Granulozyten in der Regel das Bild während der Initialphase.

Auf dem Höhepunkt der allergischen Benzocaintest-Reaktion nach 48 Std. beschränken sich die degenerativen Zellveränderungen auf kleinere intracytoplasmatische Bezirke und führen noch nicht zum Zelltod, wobei es bei der Laurylsulfat-test-Reaktion stellenweise zur Oberflächenschädigung der Epidermiszellen kommt, was schließlich zur vollständigen Cytolyse einzelner Zellen führt.

Nach der durch Benzocain hervorgerufenen allergischen Testreaktion nach 48 Std. enthält das intraepidermale Bläschen ebenso wie der spongiotisch aufgelockerte Blasengrund und das zellig infiltrierte Corium zahlreiche Monozyten, wobei in der durch Laurylsulfat hervorgerufenen Testreaktion nur sehr wenige Monozyten enthalten sind. Selbst bei zurückhaltender Formulierung kann gesagt werden, daß die experimentelle kontaktallergische Reaktion auf ihrem Höhepunkt eine in erheblichem Ausmaß durch Monozyten charakterisierbare Entzündung ist.

Im Hinblick auf die Bereitschaft zur Reaktion, dispositionellen Einfluß, Auslösung, Schwellenbereich, Chemospezifität, Verhalten bei wiederholter Einwirkung sowie Reaktionsbild, hat MIESCHER (12) bereits in funktioneller Sicht eine klare Trennung zwischen allergischem und toxischem Geschehen geschildert.

Diese Regel gilt auch für die vom Test mit Benzocain und Laurylsulfat hervorgerufenen Reaktionen.

4. Vergleichsanalyse toxischer und toxoallergischer Testreaktionen nach 48 Std. gegen Laurylsulfat und Cetylpyrimidium.

Beim Vergleich der toxischen und toxoallergischen Testreaktion nach 48 Std. bei Proband LK, ausgelöst durch Laurylsulfat und Cetylpyrimidium, liegt die Dichtezahl (1 mm^2) der Monozyten bei der toxoallergischen Reaktion um $\frac{38,56}{2,90}$ (13,3 mal) über der Dichtezahl der toxischen Reaktion. Die Dichtezahl der Lymphozyten ist bei der toxoallergischen Reaktion um $\frac{90,25}{29,83}$ (ca. 3 mal) größer als die Dichtezahl der toxischen Reaktion (s. Tab. 8).

Tabelle 8:

Testergebnisse mit Laurylsulfat und Cetylpyrimidium nach 48 Std. bei Proband LK (w, 44 J.)

Laurylsulfat:

(makroskopisch: +)

Ø Wert	1 mm^2	Infiltrat
Mono: 59,37	2,90	14109553
Lympho: 596,75	29,83	1415479
Gran: 161,5	8,07	3925743

Cetylpyrimidium:

(makroskopisch: ++)

Ø Wert	1 mm^2	Infiltrat
Mono: 77,12	38,56	19382415
Lympho: 1444	90,25	45364704
Gran: 242,37	25,14	7614233

Die Dichtezahl der Granulozyten bei der toxoallergischen Reaktion ist um $\frac{25,14}{8,07}$ (3,1 mal) über der Dichtezahl der toxischen Reaktion.

Im Infiltrat liegen folgende Zellzahlenverhältnisse vor:

Infiltrat: (Proband LK, w, 44 J.)

48 Std.

Laurylsulfat:

(toxisch)

Mono: 14109553

Lympho: 1415479

Gran: 3925743

Cetylpyrimidium:

(toxoaallergisch)

Mono: 19382415

Lympho: 45364704

Gran: 7614233

Index:

Mono: 14×10^6 : 19×10^6

Lympho: 14×10^5 : 453×10^5

Gran: 3×10^6 : 7×10^6

Beim Vergleich zwischen toxischer und toxoaallergischer Reaktion finden sich bei der 44jährigen Probandin (LK) im Infiltrat der 48 Std.-Reaktion Infiltratzellen in folgender Anordnung:

Mono	(Laurylsulfat)	$\frac{14 \times 10^6}{19 \times 10^6}$	= ca. 0,7fache
Mono	(Cetylpyrimidium)		Abnahme
Lympho	(Laurylsulfat)	$\frac{14 \times 10^5}{453 \times 10^5}$	= ca. 0,03fache
Lympho	(Cetylpyrimidium)		Abnahme
Gran	(Laurylsulfat)	$\frac{3 \times 10^6}{7 \times 10^6}$	= ca. 0,4fache
Gran	(Cetylpyrimidium)		Abnahme

Beim Vergleich der toxischen und toxoaallergischen Testreaktion zwischen Laurylsulfat und Cetylpyrimidium bei der 23jährigen Probandin CD (Tab. 9) liegt die Dichtezahl (1 mm^2) der Monozyten nach 24 Std.-Reaktion bei der toxoaallergischen Reaktion mit $\frac{3,06}{2,38}$ um 1,2 mal über der Dichtezahl der toxischen Reaktion.

Die Dichtezahl der Lymphozyten liegt bei der toxoallergischen Reaktion mit $\frac{35,21}{31,93}$ um 1,1 mal über der Dichtezahl der toxischen Reaktion. Die Dichtezahl der Granulozyten liegt bei der toxoallergischen Reaktion mit $\frac{12,50}{15,03}$ um 0,8 mal unter der Dichtezahl der toxischen Reaktion.

Tabelle 9:

Testergebnisse mit Laurylsulfat und Cetylpyrimidium nach 24 Std. bei Proband CD (w., 23 J.).

Laurylsulfat:

(makroskopisch: +)

Ø Wert		1 mm ²	Infiltrat
Mono:	47,62	2,38	1196321
Lympho:	638,62	31,93	16049806
Gran:	300,75	15,03	7554919

Cetylpyrimidium:

(makroskopisch: ++)

Ø Wert		1 mm ²	Infiltrat
Mono:	61,37	3,06	1542148
Lympho:	704,37	35,21	17702539
Gran:	250,12	12,50	6286215

Im Infiltrat der toxischen bzw. toxoallergischen Reaktion bei Proband CD liegen folgende Zellzahlenverhältnisse vor:

Infiltrat der 24 Std.-Reaktion

Laurylsulfat:

(toxisch)

Mono:	1196321
Lympho:	16049806
Gran:	7554919

Cetylpyrimidium:

(toxallergisch)

	1542148
	17702539
	6286295

Index:

Mono:	11×10^5	:	15×10^5
Lympho:	16×10^6	:	17×10^6
Gran:	7×10^6	:	6×10^6

Beim Vergleich zwischen toxischer und toxoallergischer Reaktion finden sich im Infiltrat der 24 Std.-Reaktion bei Proband CD Infiltratzellen in folgender Anordnung:

Mono:	(Lauryls.)	$\frac{11 \times 10^5}{15 \times 10^5} = 0,7\text{fache}$
Mono:	(Cetyl p.)	Abnahme
Lympho:	(Lauryls.)	$\frac{16 \times 10^6}{17 \times 10^6} = 0,9\text{fache}$
Lympho:	(Cetyl p.)	Abnahme
Gran:	(Lauryls.)	$\frac{7 \times 10^6}{6 \times 10^6} = 1,1\text{fache}$
Gran:	(Cetyl p.)	Zunahme

5. Vergleichsanalyse toxischer Testreaktionen gegen Cetylpyrimidium bei Proband MB (w, 20 J., Nr. 13, Tab. 6) nach 24 Std. und 48 Std.

Beim Vergleich der Testreaktionen gegen Cetylpyrimidium nach 24 Std. und nach 48 Std. liegt die Dichte zahl der Monozyten nach 24 Std. und 48 Std. fast gleich. Die Dichte zahl der Lymphozyten nach 48 Std. gegenüber 24 Std. ($\frac{42,77}{36,16}$) ist mit 1,2 leicht vermehrt. Die Dichte zahl der Granulozyten liegt nach 48 Std. ($\frac{2,55}{1,38}$) um 1,8 über der Dichte zahl nach 24 Std.

Tabelle 10:

Testergebnisse bei Proband MB (w, 20 J.) von Cetylpyrimidium nach 24 Std. und 48 Std.

Cetylpyrimidium:

(makroskopisch: +)

24 Std.

Ø Wert		1 mm ²	Infiltrat
Mono:	186,25	10,34	5851104
Lympho:	650,87	36,16	20448046
Gran:	24,87	1,38	780938

(Makroskopisch: ++)

48 Std.

Ø Wert		1 mm ²	Infiltrat
Mono:	167,12	10,44	5906522
Lympho:	684,07	42,77	24185921
Gran:	40,87	2,55	1441994

Im Infiltrat der 24- und 48 Std.-Reaktion gegen Cetylpyrimidiumchlorid liegen folgende Zellzahlenverhältnisse vor:

<u>Reaktion nach</u>	<u>24 Std.</u>	und	<u>48 Std.</u>
Mono:	5851104		5906522
Lympho:	20448046		24185921
Gran:	780978		1441994

Index:

Mono:	58 x 10 ⁵	:	59 x 10 ⁵
Lympho:	20 x 10 ⁶	:	24 x 10 ⁶
Gran:	7 x 10 ⁵	:	14 x 10 ⁵

Beim Vergleich zwischen 24 Std.- und 48 Std.-Reaktion im Infiltrat bei Proband MB zeigte sich, daß die Zahl der Monozyten nach 48 Std.-Reaktion $\frac{59}{58}$ leicht vermehrt zur 24 Std.-Reaktion ist. Die Lymphozyten nach 48 Std. $\frac{24}{20}$ vermehrt zur 24 Std. Reaktion und die Granulozyten nach 48 Std. 2 x vermehrt zur 24 Std.-Reaktion. Cetylpyrimidium zeigte in diesem Fall eine toxische Reaktion.

6. Vergleichsanalyse allergischer Testreaktionen, ausgelöst durch Cetylpyrimidium, nach 24 Std. und 48 Std. bei Proband JW (w, 26 J., Nr. 15 Tab. 6).

Beim Vergleich der Testreaktionen gegen Cetylpyrimidium nach 24 Std. und 48 Std. liegt die Dichtezahl der Monozyten nach 48 Std. ($\frac{2,35}{0,75}$) 3 mal über der Dichtezahl nach 24 Std. Die Dichtezahl der Lymphozyten ist nach 48 Std. 0,7 mal kleiner als die Dichtezahl nach 24 Std. Die Dichtezahl der Granulozyten liegt in der 48 Std.-Reaktion 1,2 mal über der Dichtezahl in der 24 Std.-Reaktion.

Tabelle 11:

Testergebnisse bei Proband JW (w, 26 J.) mit Cetylpyrimidium nach 24 Std.- und 48 Std.-Reaktion.

Cetylpyrimidium:

(makroskopisch: ++)		<u>24 Std.</u>	
Ø Wert		1 mm ²	Infiltrat
Mono:	11,25	0,75	471240
Lympho:	452,37	30,15	18948874
Gran:	167,75	11,18	7026502
(makroskopisch: ++++)		<u>48 Std.</u>	
Ø Wert		1 mm ²	Infiltrat
Mono:	47	2,35	3321960
Lympho:	433,25	21,66	30618576
Gran:	268,87	13,44	18998784

Im Infiltrat liegen folgende Zellzahlenverhältnisse vor:

	<u>24 Std.</u>	<u>48 Std.</u>
Mono:	471240	3321960
Lympho:	18948874	30618576
Gran:	7026502	18998784

Index:

Mono:	47×10^4	:	332×10^4
Lympho:	18×10^6	:	30×10^6
Gran:	7×10^6	:	18×10^6

Beim Vergleich zwischen der 24 Std.- und 48 Std.-Reaktion im Infiltrat bei Proband JW zeigte sich, daß die Zahl der Monozyten nach 48 Std. $\frac{332}{47}$ ca. 7 mal größer war als nach 24 Std., die Lymphozytenzahl nach 48 Std. $(\frac{30}{18})$ ca. 1,6 mal die Zahl in der 24 Std.-Reaktion übertraf. Die Zahl der Granulozyten lag nach 48 Std. $(\frac{18}{7})$ ca. 2,5 mal über der in der 24 Std.-Reaktion. Cetylpyrimidium zeigte demnach in diesem Fall eine allergische Reaktion.

Zu den obengenannten Testergebnissen kann man zusammenfassend folgendes aussagen:

Das Reaktionsbild der Epikutantestung mit Cetylpyrimidium kann polymorph sein, d. h., in manchen Präparaten stellen die allergischen Vorgänge nur Teilvorgänge dar: Neben allergischen können auch toxische Vorgänge auftreten, sei es unabhängig voneinander, sei es in Form einer Folgewirkung. Die Kombination von allergischen und toxischen Hautveränderungen im Bilde von Kontaktreaktionen wie bei Cetylpyrimidium ist nichts Ungewöhnliches. Sie wird des öfteren bei der Prüfung eines Allergens in bezug auf seine toxische Schwellenkonzentration angetroffen.

IV. DISKUSSION

Mit histologisch-mikroskopischen Routine-Methoden war eine Differenzierung zwischen Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten, Histiozyten bzw. Gewebsmakrophagen als Infiltratzellen bei Ekzemreaktionen nicht hinreichend sicher möglich. So blieb auch über längere Zeit eine gewisse Unklarheit über die Natur der mononukleären Zellen im Reaktionsbild bestehen. Die im Infiltrat vorherrschenden Zellen werden von SPIER (14) rein deskriptiv als "Rundzellen" bezeichnet.

Enzymcytochemische Methoden brachten gegenüber der klassischen Histologie einen Fortschritt. Sie ermöglichten die nähere Charakterisierung einzelner Zellarten nach ihrem typischen Zellmuster, so daß sich auch morphologisch ähnliche Zellarten voneinander unterscheiden ließen.

BRAUN-FALCO (2) konnte 1956 in den spongiotischen Bläschen von Ekzemexcisaten, die vorwiegend von Lymphozyten durchsetzt waren, Leukoaminopeptidase (LAP) nachweisen. Er machte die Lymphozyten für die Enzymbildung verantwortlich. Amino-peptidase kam außerdem in Mastzellen vor. Sie fehlte in Granulozyten.

Nach STEIGLEDER u. GANS (15) (1964) erfolgt in den Histiozyten die Bildung dieses Enzyms.

FISCHER u. GEDIGK (4) konnten 1960 LAP-Aktivität in mononukleären Phagozyten, in Riesenzellen und, weniger stark, in Histiozyten, Fibroblasten sowie in den Capillarwänden nachweisen.

BANDMANN (1) stellte 1967 die LAP-Bestimmung als Methode zur Differenzierung der Infiltratzellen in Frage, weil

1. zu viele Zellen schwankende LAP-Aktivität zeigen und
2. BRAUN-FALCO (2) sowie STEIGLEDER (15) voneinander abweichend die LAP-aktiven Infiltratzellen als

Lymphozyten bzw. Histiozyten ansahen.

Nach BANDMANN (1) gestattet auch die Adenotriphosphatase (ATPase)-Bestimmung keine genaue Differenzierung der Infiltratzellen, da die ATPase-Aktivität in lymphatischen Zellelementen einmal als "inaktiv" (WACHSTEIN, 1962) und zum anderen als "schwach aktiv" (LENNERT, 1964) beschrieben wurde. Eine beweisende Abgrenzung zwischen den stark aktiven Zellen der histologisch faßbaren Ekzemzonen und den schwächer aktiven Lymphozyten war nicht möglich.

Mit Hilfe des Peroxydase-Nachweises, unter Verwendung von Benzidin bzw. L-Naphthol, konnte BANDMANN (1) die Infiltratzellen unterscheiden. In kontakt-allergischen und toxischen Testreaktionen reagierten Monozyten und Granulozyten peroxydase-positiv, Lymphozyten und Histiozyten dagegen peroxydase-negativ. Zweifellos gibt es auch peroxydase-negative Monozyten. Sie sind jedoch als einwandernde Infiltratzellen stets peroxydase-positiv. Bei seinen Untersuchungen über kontakt-allergische Testreaktionen fand BANDMANN (1) auf dem Höhepunkt der Reaktion eine Entzündung, die in erheblichem Ausmaß durch das Vorliegen von Monozyten charakterisiert war.

In den eigenen Untersuchungen wurden die Färbemethoden nach DEANE, BARNETT und SELIGMANN (3) mit Peroxydase-Nachweis angewendet, da nach BANDMANN (1) eine Zelldifferenzierung auf diese Weise am besten durchzuführen ist.

In unseren Präparaten ließen sich vier Zellarten, Lymphozyten, Monozyten, Granulozyten und Eosinophile, mikroskopisch-histologisch gut unterscheiden. Die anderen, nicht klar zu definierenden Zellarten blieben außer Acht. Von der deskriptiven Bezeichnung "Rundzellen" wurde abgesehen.

Bei der vergleichenden Untersuchung der 24- und 48-Stunden-Reaktionen gegen drei von uns ausgewählte Testsubstanzen

wurden die qualitativen und quantitativen Unterschiede der in allergischen, toxoallergischen und toxischen Reaktionsbildern vorliegenden Zellformen ermittelt und erstmals rechnerisch für die Gesamtreaktion ausgewertet.

Die Ergebnisse der qualitativen Zellanalyse im allergischen Reaktionsbild stimmen mit denen von MIESCHER (12) weitgehend überein.

Von Anfang an spielen die Lymphozyten eine dominierende Rolle. Auch mit den Befunden von BANDMANN(1) herrscht im wesentlichen Übereinstimmung, wonach in der kontakt-allergischen 48-Stunden-Reaktion die Monozyten in den Vordergrund treten.

Obwohl BANDMANN (1) zur Auslösung einer toxischen Reaktion als Testsubstanz 25 % Crotonöl, wir hingegen 5 % Laurylsulfat verwendeten, zeigte sich bei der qualitativen Zellanalyse eine Übereinstimmung. Bei BANDMANN und bei uns traten in der Initialphase toxischer Testreaktionen Granulozyten in den Vordergrund.

Neben der cytochemischen Methodik wird neuerdings die Elektronenmikroskopie zur Unterscheidung der einzelnen Infiltratzellen herangezogen. Eine Darstellung der charakteristischen Feinstruktur ekzematöser Reaktionen gaben BRAUN-FALCO u. WOLFF 1971 (17, 18) und METZ 1970 (11).

Im Lichte der neueren Untersuchungen von WOLFF und BRAUN-FALCO (1971) erscheint das Konzept von MIESCHER (1962), das die überragende Bedeutung der Lymphozyten für die allergische Ekzemreaktion postulierte, im wesentlichen bestätigt. In dermalen und epidermalen Veränderungen der allergischen Testreaktionen nach Applikation von 5 % igem Benzocain überwiegen eindeutig monozytär-histiozytäre Zellelemente. Auch zahlreiche Monozyten und Gewebsmakrophagen sind im Infiltrat zu finden. Häufig finden sich Zellen, die nicht eindeutig als Monozyten oder Gewebsmakrophagen einzuordnen sind, da sie Charakteristica beider Zellarten tragen. Im Infiltrat sind

stets kleine, helle Lymphozyten und stimulierte, mittelgroße Lymphozyten vorhanden. Eosinophile liegen nur gelegentlich, Mastzellen selten, neutrophile Granulozyten und Plasmazellen fast niemals vor.

Auch mit den elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnissen von WOLFF u. BRAUN-FALCO (17/18) können die Ergebnisse unserer qualitativen Zellanalyse an allergischen Testreaktionen in Einklang gebracht werden.

METZ (11) schildert die epidermalen Veränderungen allergischer und toxischer Epikutantest-Reaktionen der Humanhaut an Hand elektronenmikroskopischer Untersuchungen:

Nach 4-6 stündiger Exposition mit 2 % Benzocain-Salbe sind in der Epidermis von Sensibilisierten nur vereinzelt Infiltratzellen anzutreffen, die sich ultrastrukturell als kleine Lymphozyten erweisen. Im weiteren zeitlichen Ablauf der allergischen Testreaktion entwickelt sich zunehmend ein dermales Infiltrat mit unterschiedlich stark ausgeprägter Einwanderung von Infiltratzellen in die spongiotisch aufgelockerte Epidermis. Dort sind vier verschiedene Zelltypen anzutreffen: Kleine und mittelgroße Lymphozyten, Gewebsmakrophagen und Mastzellen. Die zahlenmäßige Verteilung dieser vier Zelltypen schwankt in den einzelnen Excisaten. Gehäuft kommen jedoch mittelgroße Lymphozyten vor, es folgen Makrophagen und kleine Lymphozyten. Am seltensten sind Mastzellen anzutreffen. Dieser Befund könnte im Widerspruch zu den Ergebnissen von BANDMANN (1) stehen, der in allergischen 48-Stunden-Reaktionen zahlreiche Monozyten gefunden hat.

Nach lokaler Applikation von 50 % Crotonöl, einer obligat-toxisch wirkenden Substanz, bestehen die ersten elektronenoptisch sichtbaren Veränderungen neben einem intercellulären Ödem der unteren Epidermisschichten in cytolytisch-degenerativen Vorgängen, die schon frühzeitig zur Zerstörung einzelner Zellen führen (METZ, 11). Infiltratzellen werden zu diesem Zeitpunkt meist als "mikroabszeßartige" Formationen zwischen den dissoziierten Zellen des mittleren unteren Stratum Malpighi

angetroffen. Bei den eingewanderten Infiltratzellen handelt es sich vorwiegend um Granulozyten und Makrophagen mit bizarr konfigurierten Kernen. Die epidermale Einwanderung von Lymphozyten in die aufgelockerte Epidermis ist wesentlich geringer als in der allergischen Reaktion.

Auch hier stimmen die Untersuchungsergebnisse von METZ (11) mit unseren eigenen Untersuchungsergebnissen in bezug auf die qualitative Zellanalyse überein, obwohl METZ (11) als Testsubstanz 2 %iges Benzocain und 50 %iges Crotonöl verwendet hat, wir dagegen 10 %iges Benzocain und 5 %iges Laurylsulfat genommen haben.

Unter qualitativen Aspekten kann aufgrund der eigenen Befunde festgestellt werden:

In den allergischen Reaktionen gegen 10 % Benzocain-Salbe bestehen die Infiltratzellen überwiegend aus Lymphozyten und Monozyten. Das Stratum basale erscheint verquollen und an einigen Stellen spongiotisch. Demnach findet sich bei den allergischen Reaktionen keine Zellzerstörung, sondern lediglich eine Zelldegeneration.

In den toxischen Reaktionen gegen 5 % Laurylsulfat-Creme bestehen die Infiltratzellen überwiegend aus Lymphozyten und Granulozyten. Es findet sich eine Oberflächenschädigung der Epidermiszellen mit Ödematisation. Vereinzelt kann dies auch zu einer Schädigung im Zellinnern im Sinne einer Cytolyse führen. Zuweilen endet dieser Prozeß sogar in eindeutige Vorgänge einer Zellnekrose.

In den toxoallergischen Reaktionen gegen 1 % Cetylpyrimidium-Lösung ist das histologische Bild polymorph. Die Infiltratzellen bestehen überwiegend aus Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten.

Im Infiltrat können neben zumeist allergischen, auch toxische Vorgänge auftreten, sei es unabhängig voneinander, sei es in Form einer Folgewirkung. Man sieht eine "lymphozytäre Spongiose" und auch suprabasale spongiotische Bläschenbildungen. Ein eigentlicher Zelltod mit Schädigung im Zellinnern ist

jedoch noch nicht zu beobachten, da die Schwellenwirkung zur Zellnekrose offensichtlich noch nicht überschritten wird.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei insgesamt 31 Probanden, die bereits eine Kontaktreaktion gegen Benzocain, Natriumlaurylsulfat oder Cetylpyrimidinchlorid aufgewiesen hatten, wurden erneut Epikutantests mit 10 % Benzocain, 1 % Cetylpyrimidinchlorid und 5 % Natriumlaurylsulfat durchgeführt.

Aus den 24- und 48-Std.-Reaktionen wurden 30 Hautproben mittels Stanze entnommen und einer histo- bzw. zytologischen Analyse unterzogen mit dem Ziel, die Epikutantest-Reaktionen nach allergischen, toxischen und toxo-allergischen Kriterien zu differenzieren.

Durch qualitative und quantitative Zellanalyse in den 24- und 48-Std.-Testreaktionen kann, wie die Ergebnisse mikroskopischer Analysen an speziell gefärbten Schnitten des Reaktionsgewebes zeigen, eine hinreichend klare Unterscheidung zwischen allergischen und toxischen Reaktionen erreicht werden.

In der Initialphase treten bei allergischen Reaktionen die Lymphozyten in den Vordergrund, bei toxischen Reaktionen dominieren hingegen Granulozyten. Dies gilt grundsätzlich - in guter Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen anderer Autoren - für die 3 verwendeten Testsubstanzen.

Im einzelnen ergeben sich jedoch erkennbare stoffbezogene Unterschiede:

1. Allergische Reaktionen gegen 10 % Benzocain-Salbe weisen im Infiltrat überwiegend Lymphozyten und Monozyten auf. Es finden sich Zelldegenerationen, jedoch keine erkennbare Zellnekrose.

Im Vergleich zu 24-Std.-Reaktionen weisen die 48-Std.-Reaktionen keine nach Anzahl und Dichte vermehrte Ansammlung von Lympho- und Monozyten auf.

2. In toxischen Reaktionen gegen 5 % Laurylsulfat-Creme liegen als Infiltratzellen überwiegend Lymphozyten und Granulozyten vor.

Es läßt sich das Vorstadium einer Zellschädigung nachweisen. Nach 48 Std. sind in toxischen Reaktionen neben Lymphozyten vornehmlich Granulozyten festzustellen.

Gegenüber den 24-Std.-Reaktionen lassen die toxischen Reaktionen nach 48 Std. keine oder eine allenfalls leichte Zunahme der Infiltratzellen erkennen.

3. Reaktionen gegen 1 % Cetylpyridinchlorid-Lösung können sowohl allergische als auch toxische Bilder aufweisen, die unabhängig voneinander oder nebeneinander zur Ausbildung kommen.

An den Infiltratzellen, vorwiegend Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten, erkennt man degenerative Veränderungen und vereinzelt beginnende Zellnekrose, jedoch keine eigentliche Zerstörung der Zellen.

Die in 48-Std.-Reaktionen feststellbare Zunahme der aus Lymphozyten, Monozyten und neutrophilen Granulozyten bestehenden Zellinfiltration ist vergleichbar mit jener der rein allergischen Kontaktreaktionen.

Die eigenen Untersuchungsbefunde stehen im Einklang, insbesondere mit den Beobachtungen G. MIESCHERS (1962) an allergischen Reaktionen gegen 5 % Ichthyol-Salbe.

Bei insgesamt guter Übereinstimmung mit den von BANDMANN (1967) vorgelegten Reaktionsanalysen, sprechen die eigenen Beobachtungen an allergischen Testreaktionen jedoch eher für ein Überwiegen der Lymphozyten gegenüber dem Monozyten-Anteil.

Eine eindeutige diagnostische Abgrenzung allergischer Epikutantest-Reaktionen von toxischen oder gemischten toxisch-allergischen Reaktionsformen ist auch, wenn man neuere Reaktionsanalysen mit elektronen-mikroskopischen Methoden berücksichtigt, bislang nicht möglich.

Zur Differenzierung allergischer wie toxischer Reaktionen müssen im Zweifelsfalle neben histologischen Befunden auch anamnestische und klinische Daten herangezogen werden.

VI. LITERATUR

1. Bandmann H.J.: Monozyten bei experimentellen Kontaktekzem.
Hautarzt 18, 122-133 (1967)
2. Braun-Falco O.: Histochemische und morphologische Studien an normaler und pathologisch veränderter Haut.
Arch.Derm.Syph. (Berl.) 198, 111-198 (1954)
Derm.Wschr. 134, 1341 (1956)
3. Deane H.W.
Barnett R.J.
Seligmann A.M.: Histochemische Methoden zum Nachweis der Enzymaktivität.
Handbuch der Histochemie von W. Graumann und K.H. Neumann, Bd. VIII 1 Stuttgart Gustav Fischer (1961)
4. Gedigk P.
Fischer R.: Klinische Wochenschrift 38, 806 (1960)
5. Grimmer H.
Spier H.W.: Histologische Verifizierung der passiven Übertragbarkeit des tierexperimentellen Kontaktekzems.
Zur Interferenz toxischer und allergischer Epikutanreaktionen.
Hautarzt 12, 300-306 (1961)
6. Hauser W.: Cytologische Unterscheidungsmöglichkeiten zwischen allergischen und toxischen Reaktionen.
Archiv Klin.Exp.Derm. 213, 482-485 (1960)
7. Helwig B.: Lehrbuch moderner Arzneimittel.
Wissenschaftlicher Verlag GmbH Stuttgart (1972)
8. Letterer E.: Die hyperergische Entzündung.
Lehrbuch der allg. Pathologie 723-733, Stuttgart Georg Thieme Verlag (1959)
9. Letterer E.: Abgrenzung des allergischen und toxischen Geschehens in morphologischer und funktioneller Sicht.
Archiv Klin.Exp.Derm. 213, 277-296 (1961)

10. Macher E.: Das entzündliche Hautinfiltrat.
Handbuch der Haut- und Geschlechts-
krankheiten (J. Jadasohn, Hrsg.)
Ergänzungswerk I/2, 473-518 Berlin-
Göttingen-Heidelberg-New York
Springer 1964 a
11. Metz J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen
in allergischen und toxischen
Epikutantest-Reaktionen des Menschen.
Archiv Derm.Forsch. 245, 124-146 (1972)
12. Miescher G.: Abgrenzung des allergischen und
toxischen Geschehens in morphologischer
und funktioneller Sicht.
Archiv Klin.Exp.Derm. 213, 297-313 (1961)
13. Schneider W.: Reinigung und Pflege der Haut im Beruf
unter besonderer Berücksichtigung der
experimentellen und praktischen
Prüfverfahren.
(Gottron H.A./Schönfeld U. Hrsg.)
Dermatologie und Venerologie
Bd. I/2, 1063-1070, Stuttgart
Georg Thieme Verlag (1962)
14. Spier H.W.: Funktionelle Hautprüfungen bei
allergischen Krankheiten.
Gottron/Schönfeld: Dermatologie
Bd. III/1, 394, Stuttgart
Georg Thieme Verlag (1959)
15. Steigleder G.K.
Gans O.: Pathologische Reaktionen in der
Epidermis.
Handbuch der Haut- und Geschlechts-
krankheiten (J. Jadasohn, Hrsg.)
Ergänzungswerk I/2, 178-298 Berlin-
Göttingen-Heidelberg, Springer (1964)
16. Stüttgen G.
Ippen H.: Allergie und Haut. Lehrbuch der
Allergie- und Asthmaforschung Bd. V
Ambrosius Barth Leipzig (1969)
17. Wolff H.H.
Braun-Falco O.: Zur Ultrastruktur dermalen Veränderungen
bei der allergischen Epikutantest-
Reaktion des Menschen.
Archiv Derm.Forsch. 240, 219-239 (1971)
18. Wolff H.H.: Zur Ultrastruktur der menschlichen
Epidermis bei der allergischen
Epikutantest-Reaktion.
Archiv Derm.Forsch. 240, 23-37
Springer Verlag (1971)

Für die Überlassung des Themas und für seine freundliche Anleitung und wissenschaftliche Betreuung möchte ich Herrn Prof. Dr. F. Klaschka ergebenst danken.

Meinen besonderen Dank möchte ich auch den Mitarbeitern im histologischen und Testlabor für die technische Beratung zum Ausdruck bringen.

L E B E N S L A U F

Am 26.1.1940 wurde ich als Sohn des Kaufmannes
Tan Khing Tjoan und dessen Ehefrau Bhe Teng Nio / beide
verstorben, in Tuban/Indonesien geboren.

Im Jahre 1948 begann ich die Schulzeit auf der Volksschule
in Malang/Indonesien.

1957 kam ich auf das katholische Gymnasium
St. Louis Surabaya/Indonesien

1961 Abitur am Gymnasium St. Louis

1962 Beginn des Medizinstudiums in Mainz

1971 Medizinisches Staatsexamen in Köln

1974 Chirurgische Facharztweiterbildung in Berlin,
Westerstede und Wilhelmshaven

1980 Facharzt für Chirurgie.

Oldenburg, den 9.11.1981

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen